

防腐剤に影響を与える魚体成分に関する研究(IV) : 鱈の体表面粘質物の腐敗過程

榎本, 則行
九州大学農学部水産学教室

富安, 行雄
九州大学農学部水産学教室

<https://doi.org/10.15017/21523>

出版情報 : 九州大学農学部学藝雑誌. 18 (1), pp.95-102, 1960-10. 九州大学農学部
バージョン :
権利関係 :



防腐剤に影響を与える魚体成分に関する研究 IV

鱒の体表面粘質物の腐敗過程

榎本 則行・富安 行雄

Studies on the fish-components influencing the preservatives IV

The putrefying process of the surface mucus of loach, *Misgurnus anguillicaudatus* Cantor

Noriyuki Enomoto and Yukio Tomiyasu

先に鱒の体表面粘質物は細菌培地として良好なものではないが、これに糖を添加したり或は加水分解すれば菌の増殖はよくなることを明らかにした。¹⁾ 蛋白質は細菌の増殖基質として良好なものではないが、これに peptone, アミノ酸のような利用し易い窒素源を添加すれば蛋白質の分解はよくなるといわれている。魚が漁獲され積み重ねて貯蔵された場合、自己消化による体浸出液その他の利用され易い窒素源が体表面粘質物に混入することは十分に推察される所で、実際の場合の体表面粘質物の腐敗はこのような状態のもとで進むのではないかと考えられる。粘質物中の糖と蛋白質との結合状態は未だ不明であるが、この結合糖が細菌によつて利用され得るものかどうか、利用されるとすれば普通の魚肉蛋白質とは異なつた腐敗過程を示す筈である。またこれに糖を別に添加した場合は腐敗にどのような影響を与えるかも興味ある所である。今回は以上のような考えのもとに3種の培地即ち粘質物のみ、これに peptone を添加したもの及び galactose を添加したものを作り、腐敗に伴う変化を比較検討した。

実験方法

鱒粘質物培地の調製法は前報²⁾ に準じて行なつたが加熱殺菌処理は行なわなかつた。これを基礎培地(A)とし、A + 0.5% peptone, A + 0.025% galactose の3種の培地を作り、所要数の50cc 殺菌三角フラスコに20cc ずつそれぞれ分注、菌を接種して30°C に保ち、その一個ずつを測定に供した。

接種菌は腐敗初期(3日間室温放置)の鱒体表面から釣菌した腐敗菌の混合を用いた。Bouillon に24時間継代培養したものからその0.1cc を生理食塩水10cc に混合稀釈し、これを1cc のピペットで一滴ずつ接種した。

測定項目及び順序は Fig. 1 に示した。

測定法

- 1) 菌の増殖：光電光度計を用いて $-\log T$ を測定した。
- 2) pH：ガラス電極 pH メーター(日立 EHM-1 型)を用いた。

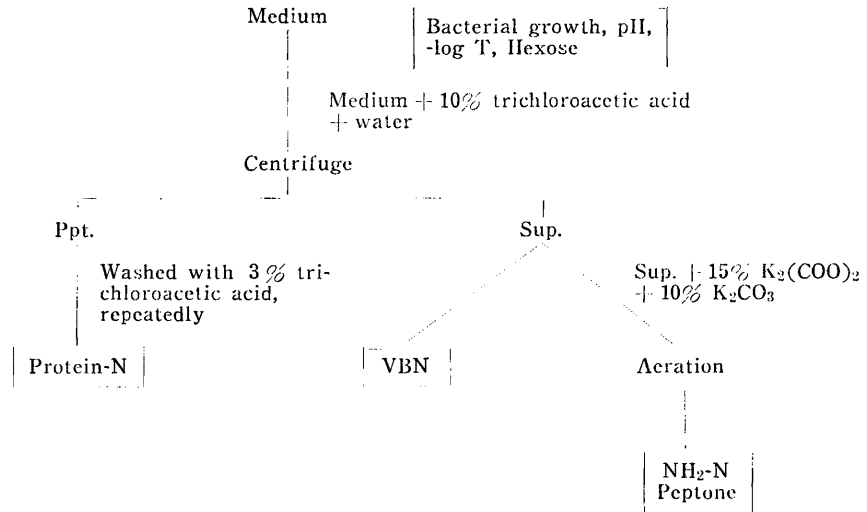


Fig. 1. Procedure and item of determination.

- 3) Hexose: Orcine を用いる Rimington の法³⁾ によつた。
- 4) Protein-N: 培地 15cc に 10% trichloroacetic acid 5cc と水 10cc を加えて遠心分離し、得られた沈澱を 3% trichloroacetic acid で数回洗滌後 Kjeldahl 法で測定した。
- 5) VBN (揮発性塩基窒素): 除蛋白液を Conway の微量拡散分析法で測定した。
- 6) NH₂-N (アミノ態窒素): 除蛋白液 15cc に 15% K₂(COO)₂ 5cc 及び 10% K₂CO₃ 5cc を加え 45 ± 1°C で 2 時間通気後 Van Slyke 法で測定した。
- 7) Peptone: NH₂-N 測定用のものを松本等⁴⁾ に準じて Biuret 反応で呈色せしめ spectrophotometer (日立 EPB-V型) で 555 mμ の吸収を測定した。詳細は後述する。

実験結果及び考察

I 菌の増殖

結果を Fig. 2 に示した。増殖は 3～6 日で maximum になるが、実験期間が長いために生菌のみならず死菌も共に測定していると考えられ、大体の傾向を知り得るのみである。Peptone の入つたものが増殖状態は最も良く、糖添加、無添加の順に悪くなるが、糖の影響は余り顕著ではなかつた。*Esch. coli* を用いた前回の実験¹⁾ ではこの差はかなりはつきり認められたが、これは菌種の差によるものと考えられる。糖の添加量を更に増せば、糖の影響がはつきりすると考え 0.1% の galactose を加えた所、生成される酸のため蛋白の沈澱を生じ光電計を用いての菌の増殖測定が不可能であつた。

II pH

結果を Fig. 3 に示した。糖添加及び無添加培地の pH はいつたん下がつてまた上昇するのに対し、peptone 添加培地は初めから上昇するのみで pH 9.0 付近で一定となつた。前

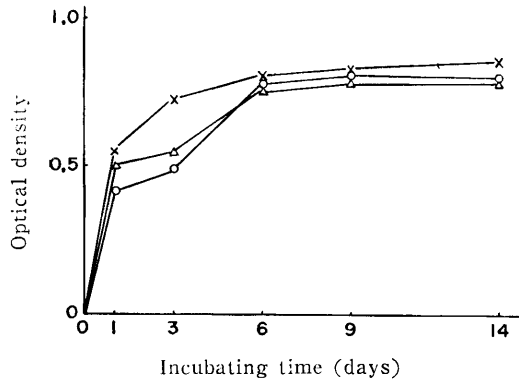


Fig. 2. Bacterial growth in various mucus solutions.

- mucus solution
- △—△ mucus solution + 0.025% galactose
- ×—× mucus solution + 0.5% peptone

Three marks used above are common to all figures in this report, except Fig. 5.

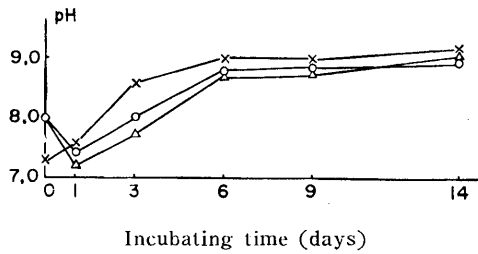


Fig. 3. Changes in pH in various mucus solutions.

三者の pH が下がるのは糖の利用による酸の生成のためと考えられ、粘質物構成糖も分解利用されていることが推察されるが、これは次の hexose の結果によつて裏づけられる。基礎培地に peptone を添加すると pH がやや低下したがそのまま実験に供した。培地の pH が酸性になるとアミノ酸は細菌によつて分解される際 amine を生じ ammonia を生じないことが確かめられているが、⁹⁾ peptone 添加培地の pH が低いといつても 7.3 であつて分解産物に差異を与える程大きな低下ではない。初期 pH の差異が本実験の各種生産物の変化に及ぼす影響は無視してよいと考えた。

III Hexose

結果を Fig. 4 に示した。Peptone 添加のものは余り減少しないのに対し他の二者は 3 日目頃まで顕著な減少が見られ、粘質物構成糖の約 1/2 迄分解された。これは前述の pH の低下と考え合わせてうなずける。

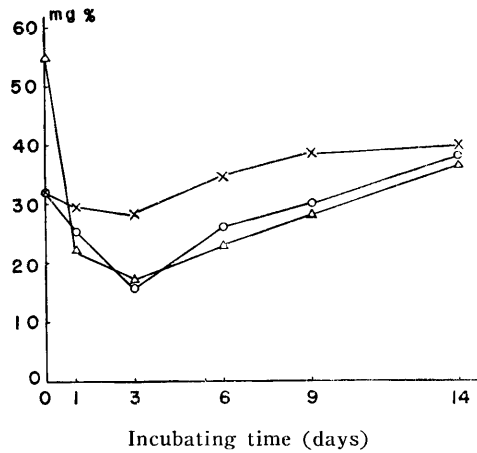


Fig. 4. Changes in hexose in various mucus solutions.

一般に細菌がエネルギー源として最も利用し易いのは糖であり、次に窒素化合物である。しかるに培地に窒素源を加えると粘質物構成糖は余り分解されなかつたので、粘質物構成糖は細菌によつて資化され易い形では存在しないものと考えられる。なお3日を過ぎる頃から逆に hexose の増加が見られた。Hexose 測定資料は増殖した細菌を含んだままなので、この増加は細菌性多糖類によるものではないかと考え、カゼインを 0.1% NaOH に溶かし HCl で pH を 7.0 にしたものと、これに 0.025% galactose を加えたものとで

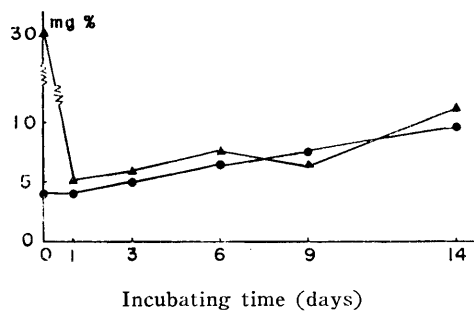


Fig. 5. Changes in hexose in casein solutions.

●—● casein solution
▲—▲ casein solution + 0.025% galactose

同様の実験を行なつた。結果は Fig. 5 のようであつた。菌の増殖が余り良くなかつたので顕著ではないが、やはり hexose の増加が後期に見られた。粘質物培地における3日目以後の hexose 増加は細菌性多糖類によるものと考えてよからう。

IV Peptone 及び Protein-N

Peptone は蛋白質が分解されて行く途中の生産物として当然考慮すべきものであるが、これについての適当な測定法が見当らなかつた。松本等⁴⁾は Biuret 反応による蛋白質の定量法を改良しているが、peptone も peptide 結合を有するから Biuret 反応で呈色する。そこで松本等⁴⁾の条件に従つて呈色させた peptone (ポリペプトン, 大五栄養化学製)の吸収曲線を求めると 555 m μ 付近に吸収極大を示したので、555 m μ における peptone 濃度と吸光度の関係を調べた。吸光度 0.05~0.25 (peptone 濃度 0.1~0.75%) において Beer の法則が成立することが分かつた。勿論厳密な定量値を求めるには種々検討すべき点が多く、例えば peptide chain が長いと青紫色を呈し短くなるにつれて赤味が強くなるので問題は多いが、前記吸光度内での吸光比を比較すれば peptone の増減傾向は分かるわけである。

Peptone 及び protein N の変化を Fig. 6 に示した。

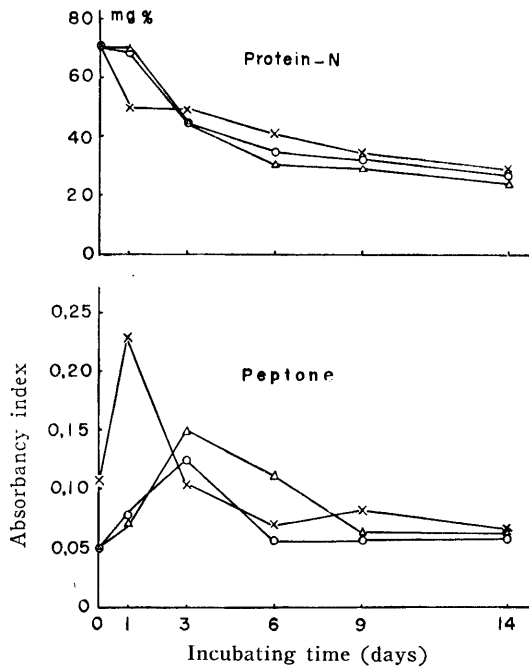


Fig. 6. Changes in protein-N and peptone in various mucus solutions.

Peptone 添加培地では、1日後において peptone の増加と protein-N の減少が著しく、明らかに粘質物蛋白の分解を示している。3日後には protein-N の変化はほとんどなくて peptone のみ急激に減少し、以後 protein-N, peptone 共に僅かずつ減少する。これに対し他の二者はほぼ同様の傾向を示し、1日後は protein-N, peptone 共に大きな変化はないが3日後には protein-N の減少と peptone の増加に相関々係が見られる。以後

peptone, protein-N 共に徐々に減少することは peptone 添加培地と同様である。Peptone 添加のものは蛋白の分解が最も進み、糖添加のものは所謂 protein sparing effect を示すかもしれないと考えたが、初期にその傾向を見せただけで 6 日以後の残存 protein-N は peptone 添加のものが最大値を示した。菌の増殖を考え合わせると、3～6 日以後の protein-N の変化は菌の生活作用によるものではなくて菌体外酵素によるものと推察されるので前記の結果もそのためではないかと考える。

V $\text{NH}_2\text{-N}$ 及び VBN

結果を Fig. 7 に示した。 $\text{NH}_2\text{-N}$ は peptone 添加のものが減少の一途を辿るのに対

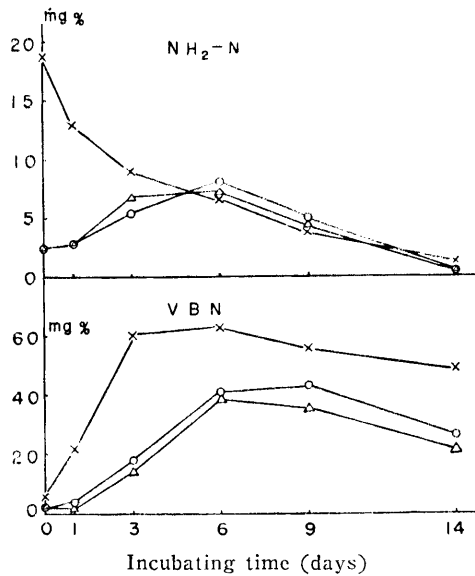


Fig. 7. Changes in $\text{NH}_2\text{-N}$ and VBN in various mucus solutions.

VBN : volatile basic nitrogen.

し、糖添加及び無添加のものはほとんど同様の変化を示す。培養後期の pH は 9.0 付近にあり、脱アミノ酵素の至適 pH は 7.5～8.5 であるから 14 日目にほとんど分解されているのも当然であろう。

VBN は peptone 添加のものが最大値を示すがこれは前記の諸結果から当然うなずける結果である。これに較べると糖添加及び無添加のものは遙かに少なく両者ともよく似た増減を示した。日引等⁶⁾ は魚肉の腐敗に及ぼす炭水化物の影響を調べ、糖類が存在すると腐敗によつて pH が低下し VBN の生成が抑制されることを示した。その実験条件は糖の添加量が 2% 以上の大量であり pH も 6.0 以下に低下しているため脱炭酸酵素の作用が考えられるが、trimethylamine, histamine は生成が抑制されたことを指摘している。本実験においても糖添加及び無添加のものは hexose が分解され pH が低下することを知つたが、

糖の添加量は微量であり pH 低下も最低 7.2 であつたから、VBN の生成抑制が酵素作用の変化によるものとは考えられない。しかも日引等⁶⁾ と類似の現象を示したのは興味ある処で、VBN の生成抑制の原因を pH のみに求めるのは危険であろう。

窒素化合物について総覧すると、分子量の大きなものから小さなものへと分解して行く過程は中間生成物の極大値が順次おくれて行く点でよく窺われる。

摘 要

鱈の体表面粘質物の腐敗過程を調べるため、粘質物溶液、粘質物溶液 + 0.5% peptone 及び粘質物溶液 + 0.025% galactose の 3 種の培地を作り、腐敗初期の鱈の体表面から釣菌した腐敗菌の混合を接種して腐敗に伴う変化を比較検討した。その結果次のような事実を知つた。

1) Peptone のような利用しやすい窒素源を加えると、初期の粘質物蛋白質の分解は促進され、また添加糖は初期に protein sparing effect をかすかに示すが、両者共に終局の蛋白質分解量には大きな影響は与えない。

2) 粘質物中の構成糖は約 1/2 位は分解利用されるが、その結合状態は細菌によつて利用され易い形ではないらしい。

3) 粘質物の腐敗においては揮発性塩基窒素の生成は少ない。

本研究の一部は文部省科学研究費によつた。記して謝意を表する。

文 献

- 1) 榎本則行・富安行雄, 1958. 九大農学芸誌, 16: 601.
- 2) 富安行雄・榎本則行, 1957. 九大農学芸誌, 16: 323.
- 3) Rimington, C., 1940. Biochem. J., 34: 931.
- 4) 松本重一郎・金光庸俊, 1955. 日水誌, 21: 284.
- 5) Stephenson, M. and Gale, E. F., 1937. Biochem. J., 31: 1316.
- 6) 日引重幸・清水正, 1959. 日水誌, 24: 913.

R é s u m é

In the previous paper,¹⁾ the authors reported that bacterial growth in mucus was meager but it was fairly increased either by the addition of galactose or after the hydrolysis of the mucus. It is a well-known fact that the bacterial growth in protein is promoted by adding suitable nitrogen source such as peptone and amino acids.

Considering these facts, three media, namely mucus solution, mucus solution plus 0.025% galactose and mucus solution plus 0.5% peptone, were inoculated with the mixed putrefactive bacteria obtained from the surface of loach at the initial

stage of putrefaction. The putrefying process of these media was investigated for 14 days, and the following results were obtained:

1) Initial decomposition of the mucus protein was promoted by adding peptone but delayed slightly by adding galactose, though there was no considerable difference between them in the amount of final protein decomposition.

2) The combination of mucus-polysaccharide with mucus-protein does not seem to be a suitable form for bacterial growth, about half amount of mucus-polysaccharide being utilized.

3) The formation of volatile basic nitrogen was meager in the putrefaction of mucus.